

# Peripheral Thyroxine Metabolism of Young Rats and Experimental Diabetic Rats (I)Maturational Process of Peripheral Thyroxine Metabolism in Young Rats

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/2297/7809">http://hdl.handle.net/2297/7809</a>

# 幼若ラットおよび実験的糖尿病ラットにおける 甲状腺ホルモン末梢代謝

## I. 幼若ラットにおける甲状腺ホルモン末梢代謝の成熟過程

金沢大学医学部小児科学講座 (主任: 谷口 昂教授)

西 脇 京 子

(昭和60年7月6日受付)

ウィスター系ラットを用いて、新生児期より生後7週齢までの血中甲状腺ホルモン濃度の経時的推移および肝と腎におけるサイロキシン (thyroxine,  $T_4$ ) からトリヨードサイロニン (triiodothyronine,  $T_3$ ) への脱ヨード活性の成熟過程について検討した。ラットにおいては、生後1ないし2日の新生児期の血中甲状腺ホルモン濃度および末梢  $T_4$  から  $T_3$  への脱ヨード活性は、ともに著しく低い値を示した。新生児期以後、血中の  $T_4$ ,  $T_3$ , リバーストリヨードサイロニン (reverse triiodothyronine,  $rT_3$ ) は徐々に上昇したが、 $T_4$  は35日齢でも成熟ラットのレベルには達しなかった。一方、 $T_3$  は、比較的急峻な上昇を示し、生後21~28日齢では成熟ラットをうわまわる値を示した。 $rT_3$  は、生後14日目にピークを示し、それ以後いったん低下したあと成熟ラットのレベルに達した。肝と腎の脱ヨード活性は、まったく異なった年齢的推移を示した。いずれの場合も、新生児期は低い。肝では、生後7日齢には正常成熟ラットの値をやや上回る活性を示すようになり、それ以後は一定であった。一方、腎では、正常の成熟ラットのレベルに達するのは14日齢以後と肝よりやや遅れた成熟を示すが、21~28日齢には成熟ラットの2倍以上の活性を示すようになり、それ以後は低下して成熟ラットのレベルに達した。腎の  $T_4$  から  $T_3$  への脱ヨード活性のピークは、血清  $T_3$  値および  $T_3/T_4$  比のピークと一致しており、幼若期活性型甲状腺ホルモンである  $T_3$  の必要量が生理的に上昇している時期には、腎における  $T_4$  から  $T_3$  への変換活性の亢進が寄与していることが示唆される。肝における  $T_4 \rightarrow T_3$  脱ヨード活性には補酵素である NADPH および還元型グルタチオン (reduced glutathione, GSH) の影響が大きく、新生児期の *in vitro* における肝の脱ヨード活性低下は、NADPH と GSH 添加により上昇した。新生児期以後では、NADPH が GSH よりも  $T_3$  産生上昇に対する影響が強かった。このことより、新生児期の肝  $T_4$ -5'-脱ヨード活性の低下は、酵素量の低下によるよりも補酵素量の不足によるものと思われ、また、NADPH は末梢  $T_4$  脱ヨード系に対して新生児期以後に律動的に働いているものと思われる。

**Key words** thyroxine, triiodothyronine, reverse triiodothyronine,  $T_4$ -5'-deiodinase activity.

Braverman ら<sup>1)</sup>が、甲状腺摘出患者においてトリヨードサイロニン (triiodothyronine,  $T_3$ ) が、サイロキシン (thyroxine,  $T_4$ ) からの変換によって生成されることを報告して以来、末梢における  $T_4$  脱ヨード系に関する研究が多く報告されている<sup>2)-7)</sup>。 $T_3$  の生物学的活性は、 $T_4$  の4~5倍高いと言われていることや、

血清中の  $T_3$  の約80%は、末梢における  $T_4$  から  $T_3$  への変換によって産生される<sup>8)</sup>ことを考えあわせると、末梢組織での  $T_4$  代謝およびその調節機構がもつ生理的意義は大きいものと考えられる。

また生後1ないし2日目の新生児期ラットの血清  $T_4$ ,  $T_3$  はともに低く、末梢における脱ヨード活性も低下し

Abbreviations: DTT, dithiothreitol; EDTA, ethylenediamine tetraacetate; GSH, reduced glutathione;  $rT_3$ , reverse triiodothyronine;  $T_4$ , thyroxine;  $T_3$ , triiodothyronine.

ていることは、すでに知られている<sup>9)10)</sup>。幼若ラットが、成長とともにどのような血中甲状腺ホルモンの推移を示すか、またその変化の基礎となる末梢での脱ヨード活性の変化については興味をもたれるところである。

そこで幼若ラットにおいて、肝および腎における  $T_4$  から  $T_3$  への脱ヨード活性の加齢による変動を、血清甲状腺ホルモン濃度の変化とともに検討した。また胎児期および新生児期の末梢  $T_4$  代謝の低下に対する成因として、脱ヨード酵素量の減少よりは、補酵素量の減少が重要であると報告されているが<sup>11)12)</sup>、肝における  $T_4$  脱ヨード酵素の補酵素である NADPH と還元型グルタチオン (reduced glutathione, GSH) が、年齢的にどのように肝の脱ヨード活性に影響をあたえるかについても検討した。

### 材料および方法

#### I. 動物

ウィスター系雄ラットより出生した仔ラットを、生後1日、2日目、7日目、14日目、21日目、28日目、35日目(肝における脱ヨード活性の補酵素添加による変化については、さらに42日目、49日目まで追加)に、エーテル麻酔下で心腔穿刺により採血し、屠殺後、肝および腎を摘出し、実験に供した。14日目までのラットについては、3~4匹の仔ラットより採取した検体を集め、一検体とした。対照としては、体重250g前後の成熟雄ラットを用いた。

#### II. 実験方法

##### 1. 出生後の血中 $T_4$ , $T_3$ , リバース $T_3$ (reverse $T_3$ , $rT_3$ ) 濃度

$T_4$  は、ガンマコート  $T_4$  キット(トラベノール社、東京)  $T_3$  は、栄研  $T_3$  リアキット(東京)、 $rT_3$  は、ダイナボット  $rT_3$  キット(東京)を用いラジオイムノアッセイにて測定した。

##### 2. 肝および腎の $T_4$ 脱ヨード活性の測定

摘出した肝腎を、直ちに0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.0)で灌流洗浄し、5mM EDTA (ethylenediamine tetraacetate, EDTA, 和光純薬)を含む0.1Mリン酸緩衝液(pH 7.0)で5倍容としホモジナイズし、得られた20%組織ホモジネートを2,000 rpm 4°C, 10分間遠心した後、その上清を用いて Chopra<sup>9)</sup>の方法に従い、 $T_4$  から生成された  $T_3$  量を指標として、組織中の  $T_4$  脱ヨード活性を測定した。即ち、20%組織ホモジネート遠心上清(上清)500  $\mu$ l と5mM EDTA を含む0.1Mリン酸緩衝液500  $\mu$ l を37°Cの恒温槽中に静置した10×75 mmのガラス試験管中で混合し、10  $\mu$ g/ml に調整した L- $T_4$  (L-thyroxine sodium salt pentahydrate, 和光純薬) 100  $\mu$ l を加え、60分間イン

キュベートした。インキュベート前後に、試験管の混合液を、0.2 ml 採取し、水冷99.5%エタノール0.4 ml を加え、2,000 rpm 10分間遠心上清中の  $T_3$  を栄研  $T_3$  リアキット(栄研、東京)を用い測定した。ホモジネートの内因性  $T_3$  を補正したのち、蛋白1 mg あたりの1時間の  $T_3$  生成量 (ng/時間/mg 蛋白) を、算出した。遠心上清の蛋白含量については、Lowry<sup>13)</sup>法により定量した。またエタノール抽出による  $T_3$  の回収率は、放射性<sup>125</sup>I をエタノール添加直前に加えて測定したところ80~82%であった。上記の如く測定した肝および腎における  $T_4$  から  $T_3$  への脱ヨード活性の経時的推移は、その都度、対照とした成熟雄ラットの肝と腎における脱ヨード活性の百分率で表現した。

##### 3. 補酵素 (NADPH, GSH) 添加による肝 $T_4$ 脱ヨード活性の年令的变化

上記のインキュベート混合液中に、リン酸緩衝液で10 mM の濃度に調整した NADPH (オリエンタル社)、GSH (オリエンタル社) NADPH+GSH 溶液を100  $\mu$ l 添加し、 $T_3$  の産生量の変化をみた。

NADPH, GSH に対する用量反応をみるためには、2.5, 5.0, 10 mM の NADPH 溶液、5.0, 10, 50 mM の GSH 溶液を、それぞれ100  $\mu$ l ホモジネート混合液に加え、リン酸緩衝液の量で調節して、反応系の全量が1.1 ml となるようにして、 $T_3$  の産生量をみた。

尚、統計的処理にあたっては t 検定を用い、すべての数値は、平均±SD で表現した。p<0.05 をもって有意差があるとした。

### 成 績

#### 1. 生後の血中甲状腺ホルモン ( $T_4$ , $T_3$ , $rT_3$ ) 濃度の変化

生後1日目の血清  $T_4$  値は、RIA の感度以下であり、その後、徐々に上昇し、生後35日目では、 $3.5 \pm 0.4 \mu$ g/dl となるが、まだ対照ラット  $5.5 \pm 0.5 \mu$ g/dl (n=12) より低値を示した(図1)。

血清  $T_3$  値も、生後1日目は、 $T_4$  と同様に、RIA の感度以下であるが、7日目  $31 \pm 17$  ng/dl (n=5)、14日目  $69 \pm 10$  ng/dl (n=5)、21日目  $112 \pm 14$  ng/dl (n=5) とピークに達する。生後21日目の  $T_3$  値は、対照ラット ( $87 \pm 6$  ng/dl, n=12) より有意に高かった。

$rT_3$  濃度も、生後1日目では低く  $0.8 \pm 0.9$  ng/dl であるが、生後14日目には、 $8.4 \pm 1.4$  ng/dl のレベルまで上昇する。その後、いったん低下したのち、対照ラットのレベルに達した(図2)。

$T_3/T_4$ ,  $rT_3/T_4$  比でみると、生後7日目では、偏差値が大きくバラツキが大きいが、その後、一定化した。生後21日目の  $T_3/T_4$  比は  $38.3 \pm 3.8$  と、14日目

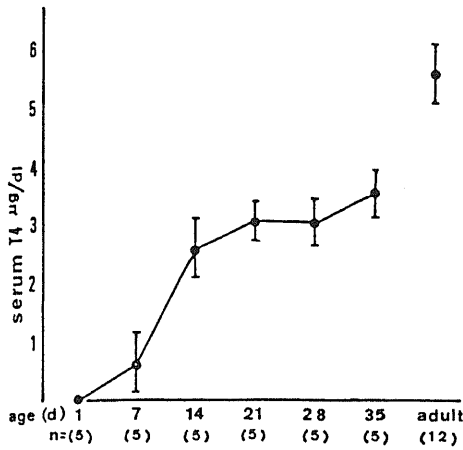


Fig. 1. Post-natal change of serum T<sub>4</sub> concentration. Each value represents the mean ± SD.

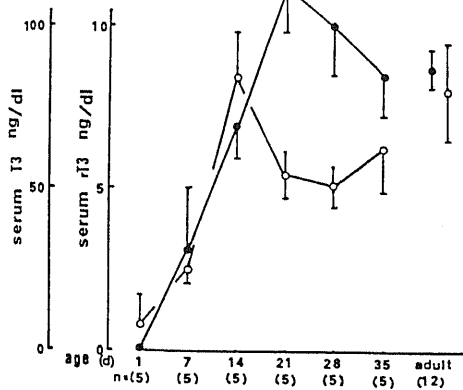


Fig. 2. Post-natal changes of serum T<sub>3</sub> and rT<sub>3</sub> concentration. Closed circle, T<sub>3</sub>; open circle, rT<sub>3</sub>. Each value represents the mean ± SD.

(27.4 ± 4.8), 35日目 (24.8 ± 2.7) より有意に高かった。rT<sub>3</sub>/T<sub>4</sub>比に関しては、生後14日目以後より安定していた (表1)。

2. 肝の T<sub>3</sub> 産生に対する年齢的影響

生後1日目では、49.6 ± 11.7% (n = 5, p < 0.01) と、対照 (100 ± 14.5%, n = 12) に比較して低値をとるが、それ以後は、7日目 147.2 ± 27.7% (n = 5, p < 0.05), 14日目 130.5 ± 3.2 (n = 5, p < 0.05), 21日目 135.2 ± 12.4% (n = 5, p < 0.05), 28日目 152.1 ± 15.6% (n = 5, p < 0.01), 35日目 144.1 ± 30.6% であった。いずれも対照ラットをうわまわる活性を示しているが、急峻な変動はみとめられなかった (図3)。

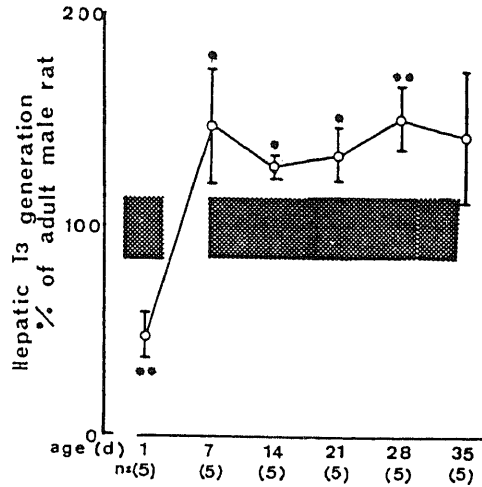


Fig. 3. Effect of age on hepatic T<sub>3</sub> generation. Shaded area represents the mean (100%) ± SD of adult male rats. Bar indicates SD. \*\*, p < 0.01; \*, p < 0.05 vs adult control group.

Table 1. Post-changes of T<sub>3</sub>/T<sub>4</sub> and rT<sub>3</sub>/T<sub>4</sub> ratio

Day	No.	T <sub>3</sub> /T <sub>4</sub> ratio	rT <sub>3</sub> /T <sub>4</sub> ratio
1	5	-	-
7	5	181.3 ± 215.6	11.9 ± 10.0
14	5	27.4 ± 4.8*	2.6 ± 0.6
21	5	38.3 ± 3.8	1.8 ± 0.1
28	5	32.3 ± 4.4	1.7 ± 0.3
35	5	24.8 ± 2.7**	1.7 ± 0.4
adult	12	16.1 ± 1.4**	1.5 ± 0.4

The values on the day 1 was not calculated, since serum T<sub>4</sub> on day 1 was not detectable by RIA. Each value represents the mean ± SD. \*\*, p < 0.01; \*, p < 0.05 vs data on the day 21.

### 3. 腎の $T_3$ 産生の年令的変動

生後1日目の腎における  $T_3$  産生は、対照ラット ( $100 \pm 19.8\%$ ,  $n=12$ ) に比較して非常に低く  $25.7 \pm$

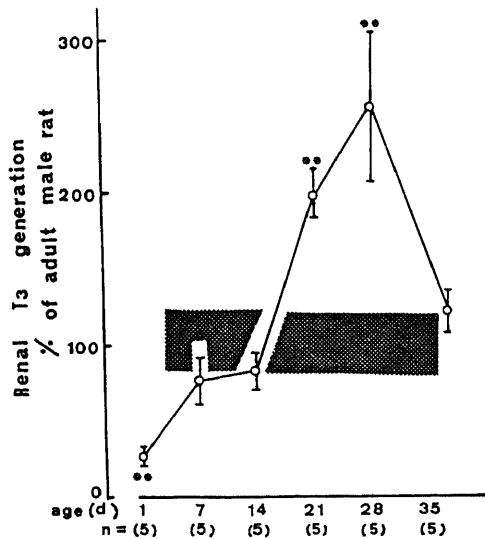


Fig. 4. Effect of age on renal  $T_3$  generation. Shaded area represents the mean ( $100\% \pm$  SD) of adult male rats. Bar indicates SD. \*\*,  $p < 0.01$  vs adult control rats.

2.2% ( $n=5$ ,  $p < 0.01$ )であった(図3)。その後、徐々に増加するが、生後7および14日目では、対照ラットのレベルに達しないが、21日目  $198.6 \pm 25.8\%$  ( $n=5$ ,  $p < 0.01$ ) 28日目  $256 \pm 46.6\%$  ( $n=5$ ,  $p < 0.01$ ) と急峻に増加し、35日目以後に、対照ラットのレベルに低下した(図4)。

### 4. 補酵素 (NADPH, GSH) 添加による肝の $T_4$ 5' 脱ヨード活性の年令的变化

1 mM の NADPH と GSH を添加することにより、図5のごとく肝  $T_4$  5' 脱ヨード活性は著明に増加する。その増加率は、2~3週齢が、もっとも著しく約4倍の活性の上昇が認められた。

次に 1 mM NADPH, 1 mM GSH をそれぞれ添加した場合の肝の  $T_4$  5' 脱ヨード活性の増加率を、補酵素を添加しない場合の脱ヨード活性を 100% として比較すると、新生児期以外では、NADPH+GSH 添加と NADPH 単独添加の間には、増加率の差はなく、GSH 単独添加の増加率は、NADPH 添加の増加率に比べ低かった(図5)。

### 5. NADPH, GSH に対する肝 $T_4$ 5' 脱ヨード活性の用量反応関係

NADPH 添加量の違いによる肝  $T_4$  5' 脱ヨード活性の用量反応曲線は、NADPH の濃度が、0.25~0.5 mM に達すると最高値となった、NADPH 添加によって到

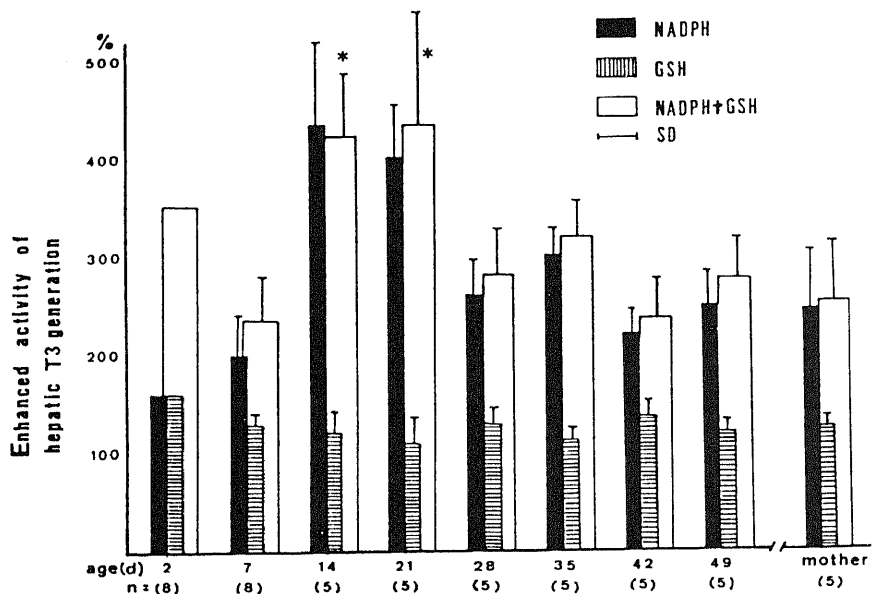


Fig. 5. Comparison of  $T_4$ -5'-deiodinase activation by 1 mM NADPH (solid column), 1 mM GSH (striped column) or the combined addition of 1 mM NADPH and GSH (open column). Results are expressed in the percent activity of basal level (without supplement). Number in parenthesis shows the number of rats. Bar indicates SD. \*,  $p < 0.01$  vs those of mother.

達した最高値のレベルは生後1週では低く、3週齢でもっとも高くなり、その後加齢とともに低下する。このNADPHに対する用量反応系に1mMのGSHを添加した場合もこの年齢依存性の変化のパターンは変わらなかった(図6A, B)。

GSH添加量の違いによる肝 $T_4$ 5'脱ヨード活性の用量反応関係は直線的な変化を示すが、脱ヨード活性の増加率は、NADPHに対する用量反応に比較的低かった。GSHに対する用量反応系に1mM NADPHを添加すると $T_4$ 5'脱ヨード活性は著明に増加し、6週齢以上のラットではGSHとの用量反応関係は認められず、幼若ラットにおける反応態度とは異っていた(図6C, D)。

考 察

ヒトにおいては、在胎12週より、甲状腺ホルモンの産生が、組織学的に確認されており胎生期にすでに、母体とは独立した視床下部-下垂体-甲状腺系が働いているといわれている<sup>14)15)</sup>。ラットでは、胎児期は生理的に甲状腺機能低下状態にあり、出生後、急速に甲状腺の発育がおこなうことが知られている<sup>15)16)</sup>。身体の成長、発育に、甲状腺ホルモンは、重要な役わりを示しており、従って、生後甲状腺ホルモンの必要量は急増

する。このような点からラットは、成長に伴う甲状腺ホルモン動態を検討するのに適したモデルであるといえる。

そこで、ラットを用いて、成長期のラットの血中甲状腺ホルモン濃度の年令的推移と、末梢の肝と腎における脱ヨード活性の成熟過程について検討した。

出生後の血中甲状腺ホルモン濃度に関しては、Van der Heideら<sup>17)</sup>の報告と同様な傾向を示した。すなわち、生後7日目までは、 $T_4$ 、 $T_3$ 、 $rT_3$ すべての甲状腺ホルモンは低値を示した。生後7日目以後、 $T_4$ 、 $T_3$ 、 $rT_3$ は、上昇を示した。血中 $T_4$ の上昇は、甲状腺より $T_4$ 分泌の増加を示すものと思われるが、生後35日齢以下の幼若ラットでは、成熟ラットのレベルに達しなかった。血中の $T_3$ 、 $rT_3$ は主に末梢における脱ヨードにより産生されるものであるが、 $T_3$ においては、生後3週~4週齢の間一過性に対照ラットのレベルをうまわる値を示した。 $rT_3$ は、生後2週目にピークとなるが、以後 $T_3$ の増加とは相反して低下した。 $T_3/T_4$ 、 $rT_3/T_4$ 比の変化においても、生後2~3週齢の間で鏡像的な変化が認められた。Carellaら<sup>18)</sup>は、ヒトにおいても、同様な相反する $T_3/T_4$ 、 $rT_3/T_4$ 比の変化が、生後24~72時間の間にみられたと報告している。一般に、 $T_4 \rightarrow T_3$ は、 $T_4$ の活性化経路、 $T_4 \rightarrow rT_3$ は $rT_3$ に生物学的活性がみられないことから不活性化経路といわれているが、生後甲状腺からの $T_4$ 分泌増加とともに、末梢において $T_4$ 5'脱ヨード系から、 $T_4$ 5'脱ヨード系へと変換されることにより、成長に伴う $T_3$ 必要量増加に適応していることが示唆される。

脱ヨード酵素活性は、生体内の多くの組織に認められるが、組織の蛋白重量あたりの活性が、もっとも高いのは、肝と腎である<sup>7)</sup>。肝および腎においては、新生児期、著しく $T_4 \rightarrow T_3$ 脱ヨード活性の低下を認めるが、その後、まったく異なった成熟過程をとった。肝の $T_4$ 5'脱ヨード活性は、生後7日目には、成人ラットのレベルに達し、それ以後、大きな変動は示さないが、腎では、生後14日目以後に成熟ラットのレベルを、はるかに上まわる急峻な上昇がみられ、以後、成熟ラットのレベルとなる。

脱ヨード酵素はメンブレンリッチ(membrane rich)な細胞内小器官に存在するといわれ、肝、腎では主にミクロゾーム分画に活性が認められている<sup>19)20)</sup>。 $T_4$ 5'脱ヨード酵素に関しては、最近の研究では、性質を異にする複数の脱ヨード酵素が、組織中に混在することが示された<sup>21)~24)</sup>。特に、肝、腎と下垂体前葉に存在する $T_4$ 5'脱ヨード酵素は、 $K_m$ 値、 $T_4$ に対する用量反応に関して著しく異なった性質をもつとされており、従来よりラットの肝や腎で主に研究された $T_4$ 5'脱ヨ

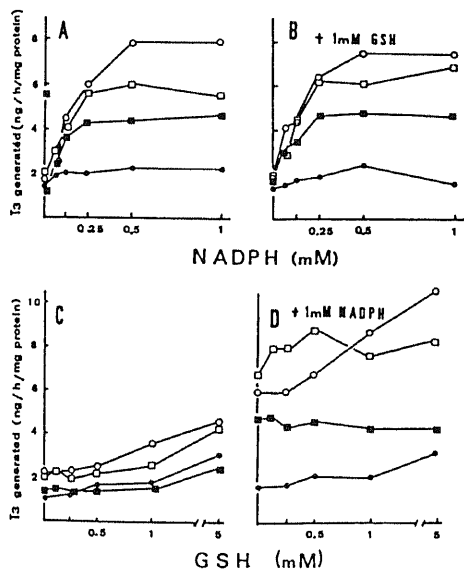


Fig. 6. Effect of NADPH or GSH on  $T_3$  production. Upper panel; various concentrations of NADPH with (B) or without (A) 1mM GSH. Lower panel; those of GSH with (D) or without (C) 1mM NADPH. Closed circle, 3 weeks of age; open circle, 1 week of age; open square, 6 weeks of age; solid square, mother rats.

ド酵素に関しては、 $k_m$  値が高く、 $T_4$ が過剰になった時これを脱ヨードする系であるといわれている。今回の結果によれば、成熟過程において、腎の  $T_4, 5'$ 脱ヨード酵素は、生理的な血中  $T_4$  上昇に対して肝よりも鋭敏な活性上昇を示すものであることが示唆される。

生後 21 日目頃に、血清  $T_3$  値および  $T_3/T_4$  比が他の年齢に比べ、有意な高値を示したが、この時期が、腎の  $T_3$  産生のピークと一致していたことより、 $T_3$  必要量の増加している成長期において、腎が甲状腺ホルモン末梢代謝の上で、生理的に大きな役割をになっているものと思われる。

胎児期および新生児期において末梢の脱ヨード活性が低下していることは、すでに知られており<sup>9)~12)</sup>、脱ヨード賦活剤であるジチオスレイトール (dithiothreitol, DTT) 添加により酵素活性が一律に上昇することより、脱ヨード活性の成熟過程においては、酵素蛋白量自体に変化はないものとされている<sup>20)</sup>。そこで補酵素添加による変化をみてみた。新生児期の肝の  $T_4, 5'$ 脱ヨード活性の低下は、NADPH および GSH 両者の補酵素添加により上昇がみられ、新生児期の脱ヨード活性低下は、他の報告例と同様に補酵素の不足が原因であると考えられる。新生児期以後、NADPH 単独添加と NADPH+GSH 添加で差が認められないことより、NADPH の方が、GSH より肝の  $T_4, 5'$ 脱ヨード活性に対して活性増強作用が大きいと考えられる。また NADPH 添加量の違いに対する肝  $T_4, 5'$ 脱ヨード活性の用量反応曲線も、GSH 添加の影響をうけないことから、NADPH が肝の  $T_4, 5'$ 脱ヨード活性に対して直接的に作用しているものと思われる。

### 結 論

幼若ラットの加齢に伴う甲状腺ホルモン脱ヨード活性の変動を、肝、腎について検討した結果、次の結論をえた。

1. 新生児期ラットでは、 $T_4$ 、 $T_3$ 、 $rT_3$ の血中甲状腺ホルモン濃度は、低値を示し、また末梢における  $T_4 \rightarrow T_3$ 脱ヨード活性も低下しているが、生後 1~3 週にかけて急速な活性上昇がみられた。
2. 肝と腎における  $T_4$  から  $T_3$  への脱ヨード活性は、それぞれ独立した年齢的推移を示した。
3. 生後 21 日目に、血中  $T_3$  値および  $T_3/T_4$  比がピークとなるが、これは、腎における  $T_4$  から  $T_3$  への脱ヨード活性のピークと一致していた。
4. 新生児期における肝  $T_4, 5'$ 脱ヨード活性の低下の一因として、NADPH および GSH の欠乏があげられ、それ以後の肝  $T_4, 5'$ 脱ヨード系の成熟には、NADPH がより大きく関与していると考えられた。

### 謝 辞

稿を終えるにあたり、御指導、御校閲を賜りました谷口昂教授に深謝致します。また終始直接御指導、御鞭撻頂いた佐藤保助教授、鈴木祐吉講師はじめ、研究に御協力頂きました教室員の皆様に感謝致します。

本論文の要旨は、第 54 回、55 回日本内分泌学会において発表した。

### 文 献

- 1) Braverman, L. E., Ingbar, S. H. & Sterling, K.: Conversion of thyroxine ( $T_4$ ) to triiodothyronine ( $T_3$ ) in athyreotic human subjects. *J. Clin. Invest.* **49**, 855-864 (1974).
- 2) Visser, T. J., Vander Does-Tobé, I., Docter, R., & Hennemann, G.: Conversion of thyroxine into tri-iodothyronine by rat liver homogenate. *Biochem. J.*, **150**, 489-493 (1975).
- 3) Höffken, B., Ködding, R. & Hesch, R. D.: Conversion of  $T_4$  to  $T_3$  and  $rT_3$  and their cytoplasmic binding: pH dependency. *Clin. Chim. Acta*, **78**, 261-266 (1977).
- 4) Cavalieri, R. R., Gavin, L. A., Bui, F., McMahon, F. & Hammond, M.: Conversion of thyroxine to 3,3',5'-triiodothyronine (reverse  $T_3$ ) by a soluble enzyme system of rat liver. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **79**, 897-902 (1977).
- 5) Hüfner, M., Grussendorf, M. & Ntokalou, M.: Properties of the thyroxine ( $T_4$ ) monodeiodinating system in rat liver homogenate. *Clin. Chim. Acta*, **78**, 251-259 (1977).
- 6) Kaplan, M. M. & Utiger, R. D.: Iodothyronine metabolism in liver and kidney homogenates from hyperthyroid and hypothyroid rats. *Endocrinology*, **103**, 156-161 (1978).
- 7) Chopra, I. J.: A study of extrathyroidal conversion of thyroxine ( $T_4$ ) to 3,3',5'-triiodothyronine ( $T_3$ ) *in vitro*. *Endocrinology*, **101**, 453-463 (1977).
- 8) Inada, M., Kasagi, K., Kurata, S., Kazama, Y., Takayama, H., Torizuka, K., Fukuse, M. & Soma, T.: Estimation of thyroxine and triiodothyronine distribution and of the conversion rate of thyroxine to triiodothyronine in man. *J. Clin. Invest.*, **55**, 1337-1348 (1975).
- 9) Harris, A. R. C., Fang, S., Prosky, J., Braverman, L. E. & Vagenakis, A. G.: Decreased outer ring monodeiodination of thyroxine and

- reverse triiodothyronine in the fetal and neonatal rat. *Endocrinology*, **103**, 2216-2222 (1978b).
- 10) **Wu, S. Y., Klein, A. H. & Chopra, I. J.** : Alterations in tissue thyroxine-5'-monodeiodinating activity in perinatal period. *Endocrinology*, **103**, 235-239 (1978).
- 11) **Harris, A. R. C., Fang, S. L., Braverman, L. E. & Vaginakis, A. G.** : Role of sulfhydryl groups (SH) on the impaired hepatic  $T_3$  generation from  $T_4$  in the hypothyroid, starved, fetal and neonatal rodent. *Clin. Res.*, **26**, 461A. (1979).
- 12) **Chopra, I.J.** : Sulfhydryl groups and the monodeiodination of thyroxine to triiodothyronine. *Science*, **199**, 904-905 (1978).
- 13) **Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. & Randall, R. J.** : Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, **193**, 265-275 (1951).
- 14) **Shepard, T. H.** : Development of the thyroid gland. p.220-225 ; *In* L. I. Gardner (Ed.) ; *Endocrine and genetic diseases of childhood and adolescence*. 2nd ed., W. D. Saunders Co., Philadelphia, (1975).
- 15) **Fisher, D.A., & Klein, A. H.** : Thyroid development and disorders of thyroid function in the newborn. *New Engl. J. Med.*, **304**, 702-712 (1981).
- 16) **Fisher, D. A., Dussault, J. H., Sack, J. & Chopra, I. J.** : Ontogenesis of hypothalamic-pituitary-thyroid function and metabolism in man, sheep, and rat. *Recent Prog. Hormone Res.*, **33**, 59-116 (1977).
- 17) **van der Heide, D. & Ende-Visser, M. P.** :  $T_4$ ,  $T_3$  and reverse  $T_3$  in the plasma of rats during the first 3 months of life. *Acta Endocrinol. (Kbh)*, **93**, 448-454 (1980).
- 18) **Carella, C., Pisano, G., Tripodi, V., Olivieri, V., Carayon, P., & Faggiano, M.** : A radioimmunoassay for reverse triiodothyronine in the term fetus, in the newborn and in various thyroid diseases. *In* Chiumell, G., & Laron, Z. (eds) *Recent Progress in Pediatric endocrinology*, Pros. Sero Symp., **12**, p.219-225, Academic Press. London. (1977).
- 19) **Auf dem Brinke, D., Hesh R. D., & Köhrle, J.** : Re-examination of the subcellular localization of thyroxine 5'-deiodination in rat liver. *Biochem. J.*, **180**, 273-279 (1979).
- 20) **Hesch, R. D., Brunner, G., & Söling, H. D.** : Conversion of thyroxine ( $T_4$ ) and triiodothyronine ( $T_3$ ) and the subcellular localization of the converting enzyme. *Clin. Chim. Acta*, **59**, 209-213 (1975).
- 21) **Visser, T. J., Kaplan, M. M., Leonard, J. L., :** Evidence for two pathways of iodothyronine 5'-deiodination in rat pituitary that differ in kinetics, propylthiouracil sensitivity and response to hypothyroidism. *J. Clin. Invest.*, **71**, 992-1002 (1983).
- 22) **van Doorn, J., van der Heide D., & Roelfsema, F.** : Sources and quantity of 3,5,3'-triiodothyronine in several tissues of the rat. *J. Clin. Invest.*, **72**, 1778-1792 (1983).
- 23) **Silva, J. E., Gordon, M. B., & Crantz, F. R., :** Qualitative and quantitative differences in the pathways of extrathyroidal triiodothyronine generation between euthyroid and hypothyroid rats. *J. Clin. Invest.*, **72**, 898 (1983).
- 24) **Chopra, I. J.** : Effect of 3,5,3-triiodothyronine-induced hyperthyroidism on iodothyronine metabolism in the rat : Evidence for tissue differences in metabolic response. *Endocrinology*, **114**, 1454-1459 (1984).
- 25) **Cheron, R. G., Kaplan, M. M. & Larsen, P. E.** : Divergent changes of thyroxine-5-mono-deiodination in rat pituitary and liver during maturation. *Endocrinology*, **106**, 1405-1409 (1980).



**Peripheral Thyroxine Metabolism of Young Rats and Experimental Diabetic Rats (I) Maturation Process of Peripheral Thyroxine Metabolism in Young Rats** Kyoko Nishiwaki, Department of Pediatrics, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920 - J.Juzen Med. Soc.,94, 689-696 (1985)

**Key words:** thyroxine, triiodothyronine, reverse triiodothyronine, T4-5'-deiodinase activity

#### Abstract

Maturation changes in serum thyroid hormone levels, and in renal and hepatic thyroxine (T4)-5'-monodeiodinating activity were studied in young rats during the first 7 weeks of life. Serum thyroid hormone level and peripheral T4-5'-deiodinating activity were very low in the neonates and thereafter gradually increased with age. But the developmental pattern was quite different in serum T4, triiodothyronine (T3) and reverse triiodothyronine (rT3). Serum T4 levels rose gradually with age, but still lower at 7 weeks of age than that of adults. Serum T3 level rapidly increased between 3 and 4 weeks of age to a level higher than that of adults. Serum rT3 reached its maximum peak on the 14th day, decreasing thereafter to the adult level. Maturation process of T4-5'-deiodinase activity was also different in the liver and the kidney. Hepatic T3 generation increased from an initial low activity to a plateau by 7 days of age, which was 1.5 times higher than that of adults. In contrast, renal T3 generation rose progressively to a level more than two-fold of the adult rats by the day of 28, declining thereafter. The rise in renal T3 production was paralleled well with the time of serum T3 elevation, suggesting the involvement of the kidney in physiological maturation of peripheral T4 monodeiodination. NADPH and reduced glutathione (GSH) had a marked stimulating effect on hepatic T4-5'-deiodinating activity *in vitro*. Although hepatic T3 generation in neonates was greatly enhanced almost to the adult level by the addition of both NADPH and GSH, NADPH became more crucial in stimulating T3 generation than GSH after the neonatal period. This suggests that the low T4-5'-deiodinating activity in the neonates is due to the insufficiency of cofactors rather than a decreased amount of the enzyme, and NADPH is a regulatory factor of peripheral T4 deiodinating system.